Münster 1936 No 145 Med DiSS

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster / Westfalen

Über den Einfluß von Monobromacetat auf das Wachstum und den Stoffwechsel von Bakterium Coli unter aeroben und anaeroben Bedingungen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

vorgelegt von
Hermann Kalbhen
(Medizinalpraktikant)
aus Nottuln i. W.

1935
Gedruckt in der Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe.

Dekan: Professor Dr. K. W. Jötten

Referent: Privatdozent Dr. med., Dr. phil. W. Haarmann

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Meinen lieben Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555426_0199

Ueber den Einfluß von Monobromacetat auf das Wachstum und den Stoffwechsel von Bakterium Coli unter aeroben und anaeroben Bedingungen.

Die kennzeichnende Wirkung der Monobrom- und Monojodessigsäure ist eine Unterdrückung der Milchsäurebildung aus Kohlenhydraten. Das gilt sowohl für die Umwandlung der Kohlenhydrate in Milchsäure durch tierische Gewebe wie auch durch Bakterien.

Die Unterdrückung der Milchsäurebildung im Gewebe durch Monobromacetat wurde von Schwartz und Oschmann[1]) aufgefunden. Nach Lundsgaard[2]) hat Monojodacetat die gleiche Wirkung. Nach Haarmanns[3]) Versuchen gelingt es sogar durch Zusatz von Monobromacetat zum Gewebe, ein anaerobes Verschwinden der Milchsäure nachzuweisen. Auch Milchsäure bildende Bakterien vermögen nach Versuchen von Hakenkamp[4]) unter der Monobromacetatwirkung aus Zucker keine Milchsäure zu bilden, sodaß eine Gerinnung der Milch ausbleibt. Auch die Umwandlung von Glukose in Milchsäure durch Bakterium Coli wird nach Versuchen von Gievekemeyer[5]) verhindert. Darmparasiten, wie z. B. Askariden werden durch Monobromacetat nach Rosenfeld[6]) stark geschädigt oder sogar abgetötet. Dabei ist die Milchsäurebildung aus Zucker aufgehoben und die Zuckerabnahme stark herabgesetzt. Die alkohol. Gärung der Glukose durch Hefezellen wird, wie Lundsgaard[7]) zeigte, durch Monojodacetat aufgehoben, was nach Caryol und Genevois[8]) auch für Monobromacetat

---

[1]) Schwartz und Oschmann: C. r. d. soc. d. biol. 91, 275, 1924; 92, 165, 1925.
[2]) Lundsgaard: Biochem. Z. 217, 162, 1932.
[3]) Haarmann: Biochem Z. 256, 326, 1932.
[4]) Hakenkamp: Inaug. Diss. Münster 1935.
[5]) Gievekemeyer: Inaug. Diss. Münster 1935.
[6]) Rosenfeld: Inaug. Diss. Münster 1934.
[7]) Lundsgaard: Biochem. Z. 220, 1, 1930.
[8]) Caryol und Genevois: Ber. über d. des. physiol. 64, 594, 1932.

zutrifft. Starke Verdünnungen von Monobromacetat bewirken nach Gronau[9]) eine Steigerung der alkoholischen Gärung.

Die oxydativen Zelleistungen werden durch die beiden halogenierten Essigsäuren erst in höheren Konzentrationen gehemmt. So wird z. B. die Sauerstoffaufnahme der Hefe in Gegenwart von Glukose nach Lundsgaard[10]) trotz aufgehobenen Zuckerschwundes nicht beeinflußt. Es lassen sich hierdurch nach Lundsgaard der Spaltungsstoffwechsel und der Oxydationsstoffwechsel voneinander trennen. Die Oxydation der Glukoseabbauprodukte Milchsäure, Brenztraubensäure und Alkohol geht auch in Anwesenheit von Jodessigsäure vor sich.

Die Sauerstoffzehrung von tierischem Gewebe wird nach Roth[11]) durch höhere Konzentrationen von Monobromacetat herabgesetzt, aber nicht aufgehoben.

Da anaerob lebende Bakterien ihren Energiebedarf durch Spaltungsvorgänge decken, so ist anzunehmen, daß gerade sie durch Monobromacetat besonders stark geschädigt werden. Aerob lebende Bakterien müssen der Monobromacetatwirkung leichter widerstehen, weil ihnen die Energielieferungen durch oxydative Vorgänge erhalten bleiben. Handelt es sich um Bakterien, die wie Coli sowohl aerob wie anaerob leben können, so ist damit zu rechnen, daß die abtötende Wirkung unter Sauerstoffabschluß schon bei wesentlich geringeren Konzentrationen von Monobromacetat eintritt als bei Gegenwart von Sauerstoff. Sterben die Bakterien unter der Monobromacetatwirkung unter anaeroben wie aeroben Bedingungen nicht ab, so ist zu erwarten, daß sie sich auf andere Ernährungsbedingungen umstellen. Es können dann andere chemische Vorgänge wie z. B. der Abbau von Eiweißstoffen und Fetten mehr in den Vordergrund treten als unter normalen Verhältnissen.

Hieraus ergab sich die Fragestellung der vorliegenden Arbeit. Es soll das Wachstum und der Stoffwechsel einiger Colistämme unter aeroben und anaeroben Bedingungen in Gegenwart von Monobromacetat untersucht werden.

Es ist dabei zunächst die Frage zu klären, wie stark die abtötende Wirkung der Monobromessigsäure bei Ausschluß und in Gegenwart von Sauerstoff ist. Sodann muß untersucht werden, wir groß hierbei der Verbrauch der Nährstoffe Glukose und

---

[9]) Gronau: Inaug. Diss. Münster 1935.
[10]) Lundsgaard: Biochem. Z. 220, 8, 1930.
[11]) Roth: Inaug. Diss. Münster 1933.

Pepton ist. Aus diesen Untersuchungen läßt sich dann entscheiden, ob die Coli-Bakterien sich an andere Ernährungsbedingungen gewöhnen können.

Da die Gerinnung der Milch durch Milchsäure bildende Bakterien gute Anhaltspunkte für das Bakterien-Wachstum gibt, wurden zunächst einige Versuche mit Milch angestellt und dann die gewonnenen Erfahrungen für die Untersuchungen des Stoffwechsels von Coli-Bakterien verwertet.

Versuche mit Milch.

Es ist allgemein bekannt, daß Milch beim Stehen nach einiger Zeit gerinnt. Dieser Gerinnungsvorgang ist das Werk von Bakterien z. B. Bacillus acidi lactici Hüppe; Micrococcus acidi lactici Krüger; Sphaerococcus acidi lactici Marpmann; Streptococcus lacticus Kruse; Micrococcus acidi lactici Leichmann; Bacillus Delbrücki usw., die aus der Luft in die Milch gelangen. Es handelt sich dabei um Milchsäure bildende Bakterien, die den Milchzucker der Milch in Milchsäure überführen. Das Casein koaguliert, wenn sein isoelektrischer Punkt erreicht ist, der bei einem Ph. von 4.60 liegt.

Die Ausflockung des Caseins setzt dann ein, wenn durch die gebildete Milchsäure der Ph.-Wert von 4.60 erreicht ist.

Wie Hakenkamp zeigte, erfolgt in Gegenwart von höheren Konzentrationen von monobromessigsaurem Natrium (1:1000) keine Gerinnung der Milch, weil die Milchsäurebildung unterdrückt wird. Fallende Konzentrationen verzögern den Gerinnungsvorgang. Parallel mit der Hemmung der Milchsäurebildung geht eine Hemmung des Zuckerabbaues, der durch höhere Konzentrationen von Monobromacetat nicht mehr stattfindet. Den milchsäurebildenden Bakterien wird durch Monobromacetat das hauptsächlichste Nährmaterial entzogen. Ob sie trotzdem lebensfähig bleiben, d. h. ihren Energiebedarf durch den Abbau von Eiweißstoffen oder Fett decken können, wurde von Hakenkamp nicht untersucht. Seine Versuche erstreckten sich auf den Einfluß von Monobromacetat auf die Bildung von Säuren, besonders der Milchsäure und die Zuckerabnahme.

In den Versuchen der Tabelle I wurde geprüft, in welcher Weise ansteigende Konzentrationen von Monobromacetat die Gerinnungszeit der Milch verändern. Die Versuche wurden in Reagenzgläsern angestellt, die 4,5 ccm Milch und 0,5 ccm Monobromacetat enthielten. Die Reagenzgläser wurden nach dem

Einfüllen der Lösung in der Flamme eines Bunsenbrenners ausgezogen und nach dem Erkalten des Glases mittels einer Wasserstrahlpumpe luftleer gemacht und in der Flamme zugeschmolzen. Sodann wurden die Gläschen in einen Brutschrank von 38 ° gestellt und die Gerinnungszeit festgestellt.

Tabelle 1.

Milch, ohne Sauerstoff

\+ = geronnen, — = nicht geronnen

	nach 1 Tag	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 8 Tagen
Kontrolle	+	+	+	+
1.10^{-12}	+	+	+	+
1.10^{-11}	+	+	+	+
1.10^{-10}	+	+	+	+
1.10^{-9}	+	+	+	+
1.10^{-8}	+	+	+	+
1.10^{-7}	+	+	+	+
1.10^{-6}	—	+	+	+
1.10^{-5}	—	—	+	+
1.10^{-4}	—	—	—	—
1.10^{-3}	—	—	—	—

Bereits nach einem Tage waren die Kontrolle ohne Monobromacetat und die Gläschen mit Monobromacetat bis zu einer Konzentration von 1×10^{-7} geronnen. In den übrigen Konzentrationen von 1×10^{-6} bis 1×10^{-3} war noch keine Gerinnung eingetreten. Sie erfolgte bei den Monobromacetat-Konzentrationen 10^{-6} nach 4 Tagen und einer Konzentration 1×10^{-5} nach 5 Tagen, vom Versuchsbeginn an gerechnet. Bei Konzentrationen 1×10^{-4} und 1×10^{-3} Monobromacetat tritt überhaupt keine Gerinnung auf. Da das Verhalten der Bakterien unter der Einwirkung von Monobromacetat in verschiedenen Konzentrationen von Bedeutung ist, wurden in den Versuchen der Tabellen 2 und 3 Bakterienzählungen vorgenommen.

Die Versuche wurden in der gleichen Weise wie in Tabelle 1 angestellt. Daneben wurden in Versuchen der Tabelle 3 auch die entsprechenden Versuche in Gegenwart von Luft durchgeführt. Die Zahl der Bakterien wurde in ½ ccm Milch auf Agarplatten ermittelt. Wie aus den Versuchen hervorgeht, unterdrückt eine Konzentration von 1×10^{-5} Monobromacetat in keiner Weise das Bakterienwachstum. Die Konzentration von 1×10^{-4} verhält sich in einzelnen Versuchen nicht gleich. In den ersten Stunden nimmt der Bakteriengehalt in Versuchen der Tabelle 2 bei Sauerstoffabschluß zunächst ab und ist nach 24 Stunden wieder stark erhöht. Ob es sich hierbei um Milchsäurebakterien handelt, ist sehr fraglich. Wahrscheinlich handelt es sich um andere stets in der Milch vorkommende Bakterien, die ihren Energiebedarf durch Eiweißabbau decken. Hierfür spricht, daß bei langem Stehen der Milch sich unter der Monobromessigsäurewirkung käsige Massen bilden, ohne daß eine eigentliche Gerinnung auftritt. In den Versuchen mit Sauerstoff (Tabelle 3) sind in Gegenwart von 1×10^{-4} Monobromacetat in Sauerstoff stets mehr Bakterien gewachsen als ohne Sauerstoff und zwar fast doppelt so viel. 1×10^{-3} Monobromacetat läßt kaum Bakterienwachstum zu. Die Platten blieben entweder steril oder es zeigten sich nur wenige Kolonien.

Tabelle 2.

Milch, ohne Sauerstoff

Kolonien (— = steril, + = massenhaft)

Stunden	1.10^{-5}	1.10^{-4}	1.10^{-3}	1.10^{-4}	1.10^{-3}
1	+	+	6	+	
2	+	12	2	80	2
3	++			55	
4	++	2	—	12	—
5	++		—	4	
6	+++	1		1	
7	+++				
10	++++	100	—		
24	++++	++	—		

Tabelle 3.

Milch. Kolonien

Versuchsdauer Stunden	1.10^{-4}		1.10^{-3}	
	ohne O_2	mit O_2	ohne O_2	mit O_2
6	40	80	—	—
10	35		—	
24	+++	++++	25	30
2	440	800	7	7
5	470	820		
24	+++	++++	—	—

Versuche mit Bakterium-Coli.

Nach diesen Vorversuchen mit Milch wurden in den nunmehr zu besprechenden Versuchen Untersuchungen mit Bakterium Coli angestellt. Das Bakterienwachstum wurde ohne und in Gegenwart von Sauerstoff untersucht.

Als Nährlösung diente Bouillon, die aus Standard-Nährbouillon der Fa. Merck gewonnen wurde (25 Gramm auf 2 Ltr.) mit einem Zusatz von 1 % Pepton und 1 % Glukose.

Die Colistämme wurden freundlicherweise vom Hygienischen Institut Münster zur Verfügung gestellt. Die einzelnen Stämme arbeiteten nicht gleichmäßig; vielmehr hatte jeder Colistamm seine besonderen Stoffwechseleigentümlichkeiten, wie sie sich auch in der Arbeit von Gievekemeyer zeigten. So stand bei ihm keine feste Beziehung zwischen Milchsäurebildung und Kohlenhydratabbau. Im Gegensatz zu den meisten Milchsäure bildenden Bakterien, die Zucker lediglich in Milchsäure umwandeln und keine anderen Abbauprodukte entstehen lassen, bildet Coli neben Milchsäure auch CO_2, Bernsteinsäure, Ameisen-, Essigsäure und Alkohol. Der prozentuale Anteil der nachgewiesenen Endprodukte des Zuckerabbaus wechselt je nach Art des untersuchten Colistamms.

In Versuchen der Tabelle 4 wurde sterile Nährbouillon mit Coli beimpft und nach verschiedenen Stunden der Trübungsgrad festgestellt. Dabei zeigte sich in den Kontrollversuchen mit und ohne Sauerstoff ein sehr starkes Bakterienwachstum. In den Versuchen mit 1×10^{-3} Monobromacetat trat auch nach 24 Stunden keinerlei Trübung auf; in den Versuchen 1×10^{-5} Monobromacetat und 1×10^{-4} Monobromacetat ohne Sauerstoff in den ersten 8 Stunden gleichfalls nicht, wohl aber mit Sauerstoff. Die Trübung war bei höheren Monobromacetatkonzentrationen stets geringer als bei stärkeren Verdünnungen von Monobromacetat. Das Bakterienwachstum nahm mit der Zeit zu. Gleichzeitig wurde auch in Versuchen ohne Sauerstoff eine Trübung der Bouillon feststellbar, die aber stark hinter der der Sauerstoffversuche zurückblieb.

Tabelle 4.

Coli. Trübung

Versuchsanordnung	Versuchsbedingungen	6 Stunden	8 Stunden	10 Stunden	24 Stunden
Kontrolle	ohne O_2	+++	++++	+++++	+++++
	mit O_2	+++	++++	+++++	+++++
1.10^{-5}	ohne O_2	–	–	+	++
	mit O_2	++	++	+++	+++
1.10^{-4}	ohne O_2	–	–	+	+
	mit O_2	+	+	++	++
1.10^{-3}	ohne O_2	–	–	–	–
	mit O_2	–	–	–	–

Aus den Versuchen geht hervor, daß das Bakterium Coli bei Gegenwart von Monobromacetat in Sauerstoff schneller wächst als ohne Sauerstoff.

Nachdem die Trübung der Bouillon uns Aufschluß über die Wachstumsbedingungen von Coli gegeben hat, wurde in den Versuchen der Tabellen 5 und 6 die Verhältnisse durch Bakterienzählung weiter sichergestellt.

Es ergab sich, daß in Gegenwart von Monobromessigsäure die Colibakterien in Sauerstoff unvergleichlich besser gedeihen als unter anaeroben Bedingungen.

Tabelle 5.

Coli. Kolonien

Konzentration	Versuchsbedingungen	4 Stunden	8 Stunden	12 Stunden
1.10^{-6}	ohne O_2	80	100	200
	mit O_2	180	320	640
1.10^{-5}	ohne O_2	22	19	14
	mit O_2	120	90	80
1.10^{-4}	mit O_2	18	8	2
	ohne O_2	30	40	60
1.10^{-3}	mit O_2	7	2	0
	ohne O_2			

Besonders deutlich kommen die Unterschiede im Versuch 2 Tabelle 6 bei der Konzentration 1×10^{-5} Monobromacetat heraus. Mit Sauerstoff betrug die Zahl der Kolonien 820, ohne Sauerstoff 10.

Tabelle 6.

Coli. Kolonien

Konzentration	Versuchsbedingungen	3 Stunden	6 Stunden	8 Stunden	10 Stunden
Kontrolle	ohne O_2	20	230		
	mit O_2	100	250		
1.10^{-5}	ohne O_2	30	80	8	
	mit O_2	150	100	25	
1.10^{-4}	ohne O_2	17	0	2	0
	mit O_2	90	23	16	3
1.10^{-3}	ohne O_2	3		5	10
	mit O_2	60		400	820

Es erhebt sich nunmehr die Frage, in welchem Umfange durch die Colibakterien das Nährmaterial, Glukose und Pepton, verbraucht wird. Um diese Vorgänge zu klären, wurden in den in Tabellen 7 und 8 wiedergegebenen Versuchen die Milchsäurebildung aus Glukose und die Glukoseabnahme bestimmt.

Die Versuche waren folgendermaßen zusammengesetzt: 45 ccm Nährbouillon mit 1,1 % Glukose und 1 % Witte-Pepton + 5 ccm Wasser (Kontrolle). Die Monobromacetatversuche erhielten einen Zusatz von 5 ccm Monobromacetat 1×10^{-2} bis 1×10^{-4} anstelle der 5 ccm Wasser im Kontrollversuch, so daß die Konzentration von Monobromacetat 1×10^{-3} bis 1×10^{-5} betrug. An Bakterienzusatz erhielten sämtliche Fläschchen einen Zusatz von 2 Tropfen Colikultur in Bouillon. Die eine Versuchsreihe wurde in evakuierten Gefäßen verschieden lange Zeit (6—24

Stunden) gehalten, die andere Versuchsreihe unter gleichen Bedingungen unter Luft stehen gelassen. Das Gesamtflüssigkeitsvolumen betrug also 50 ccm. Davon wurden 25 ccm zur Bestimmung der Glukose und 20 ccm zur Bestimmung der Milchsäure benutzt.

Die Zuckerbestimmung wurde in folgender Weise vorgenommen: 20 ccm des Versuchsansatzes wurden in 200 ccm Meßkolben mit 5 ccm gesättigter Zinksulfatlösung und einigen Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt; darauf wurde soviel 33%ige Natronlauge hinzugegeben, bis Rotfärbung des Phenolphthaleins auftrat. Durch erneuten Zusatz einiger Tropfen Zinksulfatlösung wurde die Rotfärbung entfernt. Durch das entstandene Zinhydroxyd wurden alle Bakterien und alle die Zucker bestimmenden Substanzen niedergeschlagen. Nach Auffüllen mit Wasser bis zur Marke und häufigerem kräftigem Umschütteln wurde nach ½ Stunde der Niederschlag auf einer Porzellanmutsche abgesaugt und in 50 ccm Filtrat die Zuckerbestimmung nach Bertrand vorgenommen.

Zur Bestimmung der Milchsäure wurden 25 ccm des Versuchsansatzes in 200 ccm Meßkolben mit 25 ccm 25%iger Kupfersulfatlösung versetzt und sodann mit 50 ccm einer 20%igen Aufschlemmung von Calciumhydroxyd. Es entsteht eine Fällung von Kupferhydroxyd. Gleichzeitig werden auch alle Kohlenhydrate als unlösliche Kupferkalkverbindungen nach van Slyke niedergeschlagen. Nach Auffüllung mit Wasser bis zur Marke und häufigerem Umschütteln wurde nach 1 Stunde filtriert und 100 ccm des Filtrates zur Bestimmung der Milchsäure nach Friedemann-Cotonio und Schaffer [12]) benutzt.

Nach diesem Verfahren wird die Milchsäure in Mangansulfat-Schwefelsäure-Lösung durch Kaliumpermanganat zu Acetaldehyd oxydiert, der durch das in der Vorlage befindliche Natriumbisulfit gebunden wird. Das überschüssige Bisulfit wird durch Jod zurücktitriert und sodann die Acetaldehydbisulfitverbindung durch Natriumbikarbonat gespalten; das freiwerdende Bisulfit wird gegen Jod titriert. Die verbrauchten Jodmengen entsprechen dem gebildeten Acetaldehyd und damit der vorhandenen Milchsäuremenge.

Wie aus den Tabellen 7 und 8 zu entnehmen ist, unterdrückt ein Zusatz von Monobromacetat in dem von uns angewandten Konzentrationsbereich von 1×10^{-3} bis 1×10^{-5} die Milchsäure-

[12]) Friedemann, Cotonio, Schaffer: J. of. biol. Chem. 73, 335, 359 1927.

bildung sowohl unter aeroben wie anaeroben Bedingungen vollkommen. Darüber hinaus verschwindet in der Mehrzahl der Versuche ein Teil der ursprünglich vorhandenen Milchsäure. In den Kontrollversuchen ohne Monobromacetat nimmt die Milchsäurebildung bei der Bebrütung mit und ohne Sauerstoff zu. Zwischen den Sauerstoff- und Vakuumversuchen besteht kein prinzipieller Unterschied. Die Zuckerabnahme nimmt gleichfalls in den Kontrollversuchen mit der Dauer der Bebrütung zu. Auch

Tabelle 7.
Coli

Dauer in Stunden	Versuchsbedingungen	Versuchsanordnung	mg % Glukose	mg % Milchsäure	Differenz. Glukose mg %	Differenz. Milchsäure mg %
0		direkter Versuch	970	44	—	—
6	ohne O_2	Kontrolle	876	66	— 94	+22
		1.10^{-5}	948	44	— 22	± 0
		1.10^{-4}	942	46	— 28	+ 2
		1.10^{-3}	968	48	— 2	+ 4
	mit O_2	Kontrolle	876	70	— 94	+26
		1.10^{-5}	942	46	— 28	+ 2
		1.10^{-4}	968	42	— 2	— 4
8	ohne O_2	Kontrolle	808	72	—162	+28
		1.10^{-5}	942	44	— 28	± 0
		1.10^{-4}	954	44	— 16	± 0
		1.10^{-3}	954	42	— 28	— 2
	mit O_2	Kontrolle	844	80	—126	+36
		1.10^{-5}	900	44	— 70	± 0
		1.10^{-4}	908	36	— 62	— 8
10	ohne O_2	Kontrolle	702	94	—268	+50
		1.10^{-5}	954	48	— 16	+ 4
		1.10^{-4}	942	38	— 28	— 6
		1.10^{-3}	946	40	— 24	— 4
	mit O_2	Kontrolle	748	102	—222	+58
		1.10^{-5}	846	46	—124	+ 2
		1.10^{-4}	876	42	— 94	— 2

Tabelle 8.

Coli

Dauer in Stunden	Versuchsbedingungen	Versuchsanordnung	mg % Glukose	mg % Milchsäure	Differenz. Glukose mg %	Differenz. Milchsäure mg %
0		direkter Versuch	980	51	—	—
6	ohne O_2	Kontrolle	838	67	—142	+16
		1.10^{-5}	890	50	— 90	— 1
		1.10^{-4}	905	52	— 75	+ 1
		1.10^{-3}	912	50	— 68	— 1
	mit O_2	Kontrolle	805	57	—175	+ 6
		1.10^{-5}	872	50	—108	— 1
		1.10^{-4}	890	52	— 90	+ 1
		1.10^{-3}	912	—	— 68	—
8	ohne O_2	Kontrolle	790	90	—190	+39
		1.10^{-5}	838	48	—142	— 3
		1.10^{-4}	850	53	—130	+ 2
		1.10^{-3}	850	42	—130	— 9
	mit O_2	Kontrolle	745	74	—235	+23
		1.10^{-5}	845	48	—135	— 3
		1.10^{-4}	910	52	— 70	+ 1
		1.10^{-3}	925	49	— 55	— 2
10	ohne O_2	Kontrolle	718	—	—262	—
		1.10^{-5}	815	40	—165	—11
		1.10^{-4}	860	43	—120	— 8
		1.10^{-3}	860	44	—120	— 7
	mit O_2	Kontrolle	725	112	—255	+61
		1.10^{-5}	878	46	—102	— 5
		1.10^{-4}	905	42	— 75	— 9
		1.10^{-3}	920	45	— 60	— 6
24	ohne O_2	Kontrolle	650	144	—335	+93
		1.10^{-5}	818	46	—162	— 5
		1.10^{-4}	870	50	—110	— 1
		1.10^{-3}	875	48	—105	— 3
	mit O_2	Kontrolle	636	146	—344	+95
		1.10^{-5}	696	44	—284	— 7
		1.10^{-4}	738	46	—242	—
		1.10^{-3}	860	48	—120	

hier besteht kein Unterschied zwischen den Versuchen mit und ohne Sauerstoff. Durch Zusatz von Monobromacetat wird der Zuckerschwund stark verringert.

In den Vakuumversuchen der Tabelle 7 bleibt die Zuckerabnahme bei 6- und 10-stündiger Bebrütung konstant. Anders in den entsprechenden Sauerstoff-Versuchen. Hier entspricht zunächst nach 6-stündiger Bebrütung die Zuckerabnahme der in den Versuchen ohne Sauerstoff. Bei weiterer Bebrütung nimmt der Zuckerschwund erheblich zu und beträgt nach 10 Stunden ca. das 5-fache der Vakuumversuche und annähernd die Hälfte der Kontrollversuche ohne Monobromacetat.

Es erfolgt also eine Zuckerabnahme, ohne daß dabei Milchsäure gebildet wird. Die Monobromessigsäure hat mithin den zur Milchsäure führenden Abbauweg der Glukose versperrt. Andere Wege, die z. B. zur Ameisen- oder Essigsäure oder Bernsteinsäure führen könnten, sind bestehengeblieben.

Die in Tabelle 8 wiedergegebenen Versuche entsprechen mit geringen Einschränkungen den Versuchen der Tabelle 7. Hier wird auch unter anaeroben Bedingungen die Glukose-Abnahme weit weniger eingeschränkt. Der Zuckerschwund nimmt bis zu 8-stündiger Bebrütungszeit in Sauerstoffabwesenheit zu und bleibt dann für die nächsten 18 Stunden konstant. Bei Gegenwart von Sauerstoff dagegen nimmt für die ersten 10 Stunden die Zuckerabnahme nicht zu, was dafür spricht, daß dieser Colistamm in Gegenwart von Monobromessigsäure seinen Energiebedarf durch Verbrennung von Nicht-Kohlehydraten deckt. Bei länger anhaltender Bebrütung tritt dann in Sauerstoff eine erhebliche Zuckerabnahme ein, die bei der Konzentration 1×10^{-5} fast an die des Kontrollversuches heranreicht und bei einer Konzentration 1×10^{-3} fast ⅓ der Kontrolle ausmacht. Bei dieser Verdünnung ist die Zuckerabnahme mit und ohne Sauerstoff gleich, während sie bei der nächst schwächeren Konzentration mit Sauerstoff doppelt so hoch ist wie ohne Sauerstoff.

Die Versuche zeigen, daß die Colibakterien trotz des stark veränderten Stoffwechsels nicht absterben, sondern sich auf andere Ernährungsbedingungen umstellen können. Da hierbei die oxydative Energielieferung teilweise erhalten bleibt, so wird auch verständlich, daß ohne Sauerstoff, wo die Energiebildung nur durch anaerobe Spaltungsvorgänge gedeckt wird, das Bakterienwachstum stark eingedämmt wird und die abtötende Wirkung der Monobromessigsäure auch schon bei geringeren Konzentrationen eintritt als bei Sauerstoffgegenwart.

Tabelle 9.

Coli. Pepton

Dauer in Stunden	Versuchsbedingungen	Versuchsanordnung	n/10 ccm Jod		Peptonabbau: %	
			1	2	1	2
0		direkter Versuch	12,30	12,30	–	–
6	ohne O_2	Kontrolle	9,90	8,80	19,5	28,5
		1.10^{-5}	10,40	9 85	15,5	20,0
		1.10^{-4}	10,10	10,10	18,0	18,0
		1.10^{-3}	9,60	10,10	22,0	18,0
	mit O_2	Kontrolle	9,10	8,80	26,0	28,5
		1.10^{-5}	9,60	9,60	22,0	22,0
		1.10^{-4}	10,40	9.60	15,5	22,0
		1.10^{-3}	—	10,10	—	18,0
8	ohne O_2	Kontrolle	9,35	8,00	24,0	35,0
		1.10^{-5}	8,80	9,05	28,5	26,5
		1.10^{-4}	8,55	9,30	30,5	24,5
		1.10^{-3}	7,75	9,30	37,0	24,5
	mit O_2	Kontrolle	7,50	8,25	39,0	33,0
		1.10^{-5}	7,75	8,80	37,0	28,5
		1.10^{-4}	8,00	9,30	35,0	24,5
		1.10^{-3}	—	9,60	—	22,0
10	ohne O_2	Kontrolle	5,60		54,5	
		1.10^{-5}	6,95		43,5	
		1.10^{-4}	6,70		45,5	
		1.10^{-3}	6,40		48,0	
	mit O_2	Kontrolle	6,95		43,5	
		1.10^{-5}	7,75		37,0	
		1.10^{-4}	7,75		37,0	
		1.10^{-3}	—		—	
24	ohne O_2	Kontrolle	5,35		56,5	
		1.10^{-5}	5,35		56,5	
		1.10^{-4}	5,90		52,0	
		1.10^{-3}	6,15		50,0	
	mit O_2	Kontrolle	6,40		48,0	
		1.10^{-5}	5,10		58,5	
		1.10^{-4}	5,10		58,5	
		1.10^{-3}	—		—	

Da die Colibakterien neben der Glukose auch Eiweiß bezw. deren Abbauprodukte zur Aufrechterhaltung ihres Stoffwechsels und zum Aufbau ihrer Körpersubstanz verwerten, wurde in der letzten Versuchsreihe (Tab. 9) der Abbau des zugesetzten Peptons geprüft. Die Versuche hatten die gleiche Zusammensetzung wie die Bilanzversuche der Tabellen 7 und 8.

Das Fortschreiten des Peptonabbaus wurde jodometrisch verfolgt. Die Methode stammt von Kober und Sugiura[13]). Sie wurde wegen ihrer Schwierigkeit der Ausführung kaum angewandt. Die Kober'sche Methode wurde von Haarmann[14]) vereinfacht und zu einer bequem auszuführenden Bestimmungsmethode abgeändert. Das Verfahren beruht darauf, daß Aminosäuren oder niedere Peptide in schwach alkalischer Lösung mit Kupferhydroxyd lösliche Kupfer-Komplexverbindungen geben. Die Menge des in Lösung befindlichen Kupfers wird jodometrisch ermittelt. Die Versuchsansätze zur Bestimmung des Peptongehaltes wurden, wie bei Bestimmung der Milchsäure beschrieben, durch Zusatz von Kupfersulfat + Kalkmilch von Kohlenhydraten befreit. Das Filtrat ist blauviolett durch die kompexen Kupferverbindungen gefärbt. Der in der Tabelle angegebene Jodverbrauch bezieht sich auf 100 ccm Versuchsansatz.

Aus den Versuchen geht eindeutig hervor, daß bei der Bebrütung der Peptongehalt der Lösung abnimmt. In den Kontrollen ist die Peptonabnahme im Versuch 2 der Tabelle 9 mit und ohne Sauerstoff gleich. Durch Zusatz von Monobromacetat wird auch die Peptonspaltung gegenüber der Kontrolle stark eingeschränkt und zwar annähernd in gleichem Umfange mit und ohne Sauerstoff. Da aber durch Monobromacetat besonders unter anaeroben Bedingungen das Bakterienwachstum stark gehemmt ist, so darf gefolgert werden, daß die Peptonspaltung, auf die Menge der Bakterien bezogen, erhöht sein muß. Das würde aber zugleich bedeuten, daß die Bakterien unter diesen abgeänderten Lebensbedingungen ihren Energiebedarf zum Teil durch eine vermehrte Peptonspaltung decken.

Das kommt noch besser und deutlicher im Versuch 1 zum Ausdruck wo die Peptonspaltung ohne Sauerstoff z. B. nach 8 Stunden erheblich größer ist als in der Kontrolle, und auch nach 24 Stunden, die der Kontrolle erreicht. Auch mit Sauerstoff ist

---

[13]) Kober und Sugiura: Amer. Chem. 48, 383, 1912. Zit. n. Utkin, Biochem. Z. 267, 69, 1933.

[14]) Haarmann: Siehe Wäsche, Diss. Münster 1935.

die Peptonspaltung in Gegenwert von Monobromacetat nur in den ersten 6 Stunden erheblich verringert, nach 8 und 10 Stunden aber fast von der gleichen Größenordnung wie im Kontrollversuch und nach 24 Stunden sogar noch erheblich höher als im Kontrollversuch.

Diese Versuche beweisen, daß durch Fortfall bezw. Einschränkung der Kohlenhydratverwertung die Ausnutzung von Pepton gesteigert wird. Die Colibakterien haben sich mithin auf andere Ernährungsbedingungen umgestellt.

Zusammenfassung.

Höhere Konzentrationen von Monobromessigsäure 1×10^{-3} und 1×10^{-4} verhindern die Gerinnung der Milch infolge Unterdrückung der Milchsäurebildung. Das Bakterienwachstum ist dabei stark herabgesetzt, aber nicht vollkommen aufgehoben. Die Milchsäurebildg. aus Glukose durch Colibakterien wird durch Monobromacetat bis zu einer Verdünnung 1×10^{-6} unterdrückt, ohne daß das Bakterienwachstum verhindert wird, wenn es auch stark eingeschränkt wird. Bei Sauerstoffabschluß ist das Bakterienwachstum wesentlich geringer als bei Sauerstoffgegenwart. Ein Glukoseverbrauch findet trotz aufgehobener Milchsäurebildung statt; er ist bei längerer Einwirkung der Monobromessigsäure in Gegenwart von Sauerstoff erheblich größer als bei Sauerstoffabschluß.

Unter der Monobromacetatwirkung stellen sich die Colibakterien auf andere Ernährungsbedingungen um, indem sie einmal die Kohlenhydrate nur auf Wegen abbauen, die nicht zur Milchsäure führen und ferner Nichtkohlenhydrate wie z. B. Pepton in stärkerem Umfange angreifen.